

〔報告〕油彩画に発生したカビの同定と各種顔料における抗カビ性評価

| | |
|-----|---|
| 著者 | 相馬 静乃, 佐藤 嘉則, 米村 祥央 |
| 雑誌名 | 保存科学 |
| 号 | 57 |
| ページ | 133-144 |
| 発行年 | 2018-03-23 |
| URL | http://id.nii.ac.jp/1440/00005732/ |



〔報告〕 油彩画に発生したカビの同定と 各種顔料における抗カビ性評価

相馬 静乃*・佐藤 嘉則・米村 祥央*

1. はじめに

平成28（2017）年度、東北芸術工科大学保存修復研究センターに修復作業を委託された、成田禎介《船着き場》、奈良岡正夫《朝陽》（以下2点の油彩画）の画面上にカビの被害が確認された。2点の油彩画の被害状況を観察すると、同じ画面上でも使用された絵具の色に対して選択的にカビが発生していることが認められた。

2点の油彩画に発生したカビの特徴として、《船着き場》では暗緑色で描かれた島と褐色で描かれた桟橋部分に広範囲にカビの被害が確認できた。白色を混色した空、船、海には褐色斑点状のカビが認められた（図1）。また、紫外線灯下で観察した結果、島、桟橋に発生したカビは蛍光反応を示さず、空、船、海に発生した褐色斑点状のカビは強い蛍光反応を示した。《朝陽》では、島部分や島と同色の絵具が使用されている場所には、広範囲にカビが広がっていた（図2）。しかし、暗色系の絵具を使用されていないと考えられる空部分にも被害はあり、そのカビはキャンバスの織り目、尚且つ地塗り層の露出部分に一系列に規則正しく点状に発生していた。紫外線で観察した結果、島部分と空部分に発生したカビの両者が蛍光反応を示した。

上述から、2点の油彩画に発生したカビの一部は、紫外線下で蛍光反応を示すカビとそうでないカビが存在すること、絵具の種類によりカビが発育しやすい色が異なる傾向があると推測された。そこで本研究では、2点の油彩画に発生したカビの分離培養と分子生物学的特徴に基づく近縁種推定を行った。また、2点の油彩画の画面上を蛍光X線分析装置（ α シリーズ携帯蛍光X線分析装置、INNOV-SYSTEMS）で測定し、さらに紫外線、赤外線、X線透過観察を行って、実際に油彩画で使用されたと考えられる絵具を推定した。そして、推定した絵具を用いて、分離菌株の抗カビ性試験を行い、発育量の差異を検証したので、その結果を報告する。



図1 成田禎介《船着き場》の試料採取箇所（左図①～③）とカビ発生部位（右図赤塗部分）

*東北芸術工科大学



図2 奈良岡正夫《朝陽》の試料採取箇所（左図④，⑤）とカビ発生部位（右図赤塗部分）

2. 試料および実験方法

2-1. カビの分離と形態学および分子生物学的特徴に基づく菌種同定

2-1-1. 試料採取

《船着き場》の画面上から3箇所（採取番号①，②，③），《朝陽》の画面上から2箇所（採取番号④，⑤）の計5箇所から試料を採取した（図1，図2）。試料の採取には滅菌綿棒[BD BBLカルチャースワブEZ，日本ベクトン・ディッキンソン（以下，BD）]を使用した。試料採取前と採取後の写真はデジタルマイクロスコープ（KH-7700，HiRoX）とカメラ（D7100，Nikon）で撮影した。試料の採取は，滅菌綿棒の綿球部分を回転させながら，まんべんなく採取箇所の画面上を転がしてカビの菌体を採取した。また，同一箇所からATP（アデノシン三リン酸）測定用と分離培養用の計2本をそれぞれ採取した。

2-1-2. ATP測定

カビの菌体が付着した綿棒のATP量を測定した。ATP測定は，キット化された試薬（ルシパックII，キッコーマンバイオケミファ）を用い，常法に従って測定試料を調整し，ルミテスター（C110，キッコーマンバイオケミファ）を用いて蛍光強度（Relative Light Unit；RLU）を測定した。

2-1-3. カビの分離培養

カビの菌体が付着した綿球を培地に画線接種して，23℃で4～10日間培養を行った。使用した培地はポテトデキストロース寒天（PDA）培地（Difco™ Potato Dextrose Agar，BD）とジクロラングリセロール（DG-18）培地寒天培地〔glucose（10 g L⁻¹），Bacto™ Pepton（5 g L⁻¹；BD），KH₂PO₄（1 g L⁻¹），MgSO₄・7H₂O（0.5 g L⁻¹），glycerol（220 g L⁻¹），2,6-Dichloro-4-nitroaniline（0.002 g L⁻¹），Bacto™ Agar（15 g L⁻¹；BD）〕の2種類である。培養中に伸長してきた菌糸の先端を実体顕微鏡下で滅菌メスを用いて新しい培地へ移植して，純粋培養を確認後に分離菌株とした。

2-1-4. 分離菌株の遺伝子解析

分離菌株の分子生物学的解析は、遺伝子 (DNA) 解析に基づき行った。具体的には、分離株の菌体から ISOPLANT DNA extraction kit (ニッポンジーン) を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA は、2% (w/v) のアガロース (ノベルサイエンス) で電気泳動を行い、核酸染色剤 (GelRed Nucleic Acid Stain; Biotium) で DNA を染色した後に、UV 照射で可視化して確認した。次に、抽出した DNA を鋳型として、菌類のリボソーム遺伝子群のうち 5.8S rRNA 遺伝子塩基配列とその前後にある内部転写スペーサー領域 [Internal Transcribed Spacer region (ITS) 領域] を標的とした PCR 増幅およびシーケンス反応を行った。PCR 増幅およびシーケンス反応に用いたプライマーは、ITS1プライマー (5'- TCCGTAGGTGAAC-CTGCGG -3')¹⁾と ITS4プライマー (5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC -3')¹⁾である。得られた DNA 塩基配列を用いて、公共の DNA データベース (GenBank/EMBL/DDBJ) に照合 (相同性検索: BLAST 検索)²⁾し、近縁種を予測した。また、分類学的帰属をさらに類推するために得られた塩基配列と既知近縁菌種の塩基配列 (515塩基~614塩基) を用いて、MEGA ver. 7プログラム³⁾上でマルチプルアライメントを作成し、近隣接合法⁴⁾による系統樹を作成した。なお、PCR 増幅とシーケンス解析は株式会社マクロジェン・ジャパンに委託した。

2-2. 油彩画に用いられた絵具の推定

2点の油彩画の画面上を蛍光X線分析装置 (α シリーズ携帯蛍光X線分析装置, INNOV-SYSTEMS, XRF) で測定した (図3)。検出元素を元に紫外線, 赤外線, X線透過観察を行い、両油彩画に用いられた顔料を推定した。

2-3. 抗カビ性試験

2-3-1. 試料作製

30mm 四方に切断したろ紙に、各種の油絵具を塗布し、乾燥機で55℃、24時間乾燥させたものを試験片とした。油絵具は作品に使用されていると推定した13種を選出した (表1)。なお、試験片は各色につき3セット作製した。

2-3-2. 試供菌および実験方法

供試菌株は、本研究で分離した菌株から2株 (NRO-IB-5, NRO-SO-8) を選抜した。それぞれ

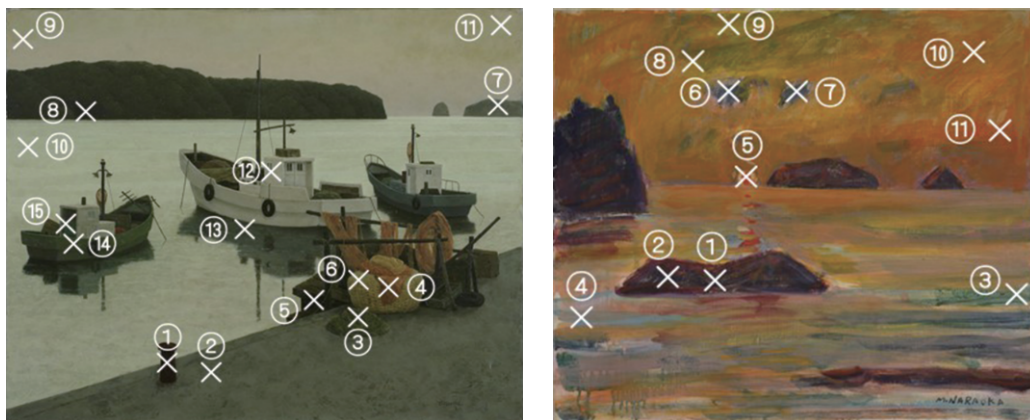


図3 《船着き場》の測定箇所 (左図①~⑮) と《朝陽》の測定箇所 (右図①~⑪)

表 1 抗カビ性試験に用いた市販顔料

| 色名 | 商品名 | 販売元 |
|--------------|--------------------|-------------|
| マルスブラック | 専門家用油絵具 6 号 (20ml) | 株式会社クサカベ |
| クロムイエロー | 専門家用油絵具 (20ml) | 松田油絵具株式会社 |
| クロムグリーン No.1 | 専門家用油絵具 (20ml) | 松田油絵具株式会社 |
| ローアンバー | 専門家用油絵具 (20ml) | ホルベイン工業株式会社 |
| ローシェンナ | 専門家用油絵具 (20ml) | ホルベイン工業株式会社 |
| バートアンバー | 専門家用油絵具 (20ml) | ホルベイン工業株式会社 |
| バートシェンナ | 専門家用油絵具 (20ml) | ホルベイン工業株式会社 |
| ビリジャン | 専門家用油絵具 (20ml) | ホルベイン工業株式会社 |
| テルペルト | 専門家用油絵具 (20ml) | ホルベイン工業株式会社 |
| プルシャンブルー | 専門家用油絵具 (20ml) | ホルベイン工業株式会社 |
| ジंकホワイト | 専門家用油絵具 (20ml) | ホルベイン工業株式会社 |
| チタニウムホワイト | 専門家用油絵具 (20ml) | ホルベイン工業株式会社 |
| シルバーホワイト | 専門家用油絵具 (20ml) | ホルベイン工業株式会社 |

れの菌株は DG-18 平板培地で培養後、界面活性剤 Tween80 を含む生理食塩水 (Tween80 0.5 ml L⁻¹, NaCl 8.5 g L⁻¹) に胞子を懸濁し、ヘモサイトメーターで測定しながら胞子数が 10⁶ になるように胞子懸濁液を調製した⁵⁾。それぞれ調整した供試菌株 2 種類の胞子懸濁液を等量混ぜ合わせて混合胞子懸濁液を調製し、抗カビ性試験に用いた。

抗カビ性試験では、まず試験片の表面と裏面にあらかじめ紫外線を 30 分間照射して表面の微生物を滅菌した後、試験片を無菌的に DG-18 平板培地上にのせた。そして、培地および試験片の表面に混合胞子懸濁液を 0.1 mL 滴下しコンラージ棒で全体が均一になるように塗り広げた。接種後、23℃ で 7 日間培養し、試料表面を目視および実体顕微鏡によって観察し、顔料ごとの抗カビ性を評価した。

抗カビ性の評価は、カビを培養した試験片の左角上部から 5 mm の範囲を設定し、実体顕微鏡下で撮影した画像を用いて生物画像解析ソフト (ImageJ)⁶⁾ で、発育したカビ菌糸の被覆面積を計測した。そして計測面積をもとに発育面積比 (%) を算出し、評価値として示した。発育程度の判定は、カビ抵抗性試験方法 (JISZ2911:2010) の光学部品・光機器の試験における評価方法を採用した (表 2)。

3. 結果と考察

3-1. カビの分離と形態学および分子生物学的特徴に基づく菌種同定

3-1-1. ATP 測定結果

ATP 測定で計測された《船着き場》からの試料の RLU 値 (ATP 量) は、菌を採取していない同一ロットのキットでのブランク値 (15 RLU) とほぼ同程度 (10~18 RLU) であったこと

表 2 抗カビ性試験結果の評価基準

| 評価値 | 発育面積比 (%) | 発育程度 |
|-----|-----------|------------------------------------|
| 0 | 0 | 試料にカビは発生していない |
| 1 | 0~10未満 | カビの発生はまばらか、又は限定されている (こん跡) |
| 2 | 10~30未満 | 試料表面にカビの集落が間欠的又はまばらに伸びている (裸眼で見える) |
| 3 | 30~70未満 | カビの発生量は多い (容易に見える) |
| 4 | 70以上 | 大量のカビが発生 |

から、《船着き場》作品上で観察されるカビはすでに死滅している状態であると推察された（表3）。

また、《朝陽》からの試料のRLU値は、251 RLUと563 RLUであり、《朝陽》から採取したカビの活性は《船着き場》のそれよりも1桁高い値となった（表3）。

3-1-2. カビの分離培養

7日間の培養時点で、《船着き場》および《朝陽》から採取した試料のいずれにおいてもPDA培地からは全くカビの発育が認められなかった。一方、好乾性カビを標的としたDG18培地では《朝陽》から採取した試料でのみカビの発育が認められた。このことは、《船着き場》で採取した試料のATP測定値が低いという結果を支持している。また、《朝陽》から採取した試料では、PDA培地では全く発育が確認されずDG18培地のみで発育が認められたことから、《朝陽》の画面上に発生したカビは好乾性であると考えられた。《朝陽》から採取した試料でDG-18培地上に伸長した菌糸を無作為に選抜し、菌糸の先端部をメスで切り取り、新たなDG-18培地に移植して純粋培養が確認できるまで継代培養を行い、分離菌株を34株得た（表4）。

3-1-3. 分離菌株の遺伝子解析

《朝陽》から分離した34株の遺伝子解析結果に基づく近縁菌種の推定を行った結果を表4に示す。採取番号⑤の島部分から分離した17株のうち、9株が *Aspergillus penicillioides* isolate EMs6137 (JQ240645)、8株が *Aspergillus viticola* isolate NRRL 5125 (EF652046) とそれぞれ相同性が高く（99%以上）、採取番号④の空部分から分離した17株はすべて *Aspergillus viticola* isolate NRRL 5125 (EF652046) と非常に高い相同性（99%以上）を示した。既知近縁種と分離株の系統樹においても、上述の結果を支持する分類学的帰属となった（図4）。以上の結果から、《朝陽》から分離した9株は *Aspergillus penicillioides* に近縁の種であり、25株は *Aspergillus viticola* に近縁の種であると推定した。*A. penicillioides* と *A. viticola* の両者はいずれも強い耐乾性を示す絶対好稠性の菌群として知られ^{7,8,9,10}、これまでの油彩画の保存環境を反映した菌群の発生であると考えられる。なお、本研究では分離菌株の遺伝子解析に基づく近縁種の推定に留めたが、形態的特徴に基づく記載を追加して種の同定を行う必要がある。

3-2. 油彩画に用いられた絵具の推定

2点の油彩画の画面上を蛍光X線分析装置で測定し、検出元素を基に紫外線、赤外線、X線透過観察を行い、得られた分析結果および観察結果に基づいて《船着き場》からは13色、《朝陽》からは10色の顔料を推定顔料として選出した（表5、6）^{11,12,13}。

3-3. 抗カビ性試験

抗カビ性試験では、《朝陽》の画面上から分離同定された代表的な2種である *Aspergillus penicillioides* 近縁分離株（NRO-IB-5）と *Aspergillus viticola* 近縁分離株（NRO-SO-8）の混合孢子懸濁液を使用した。23℃で7日間培養後の抗カビ性試験の結果を表7にまとめた。発育にほとんど影響を与えなかった顔料は、マルスブラック（評価4）、ビリジャン（評価4）、プルシャンブルー（評価4）であった。最も高い抗カビ性を示した絵具は、ジンクホワイト（評価1）とチタニウムホワイト（評価1）であるという判定結果となった。

表3 ATP測定結果*

| 採取番号 | 数値 (RLU) |
|------|----------|
| ① | 13 |
| ② | 10 |
| ③ | 18 |
| ④ | 251 |
| ⑤ | 563 |

*, 同一ロットのブランク値は15RLU

表4 《朝陽》から分離された菌株と相同性検索による近縁菌種

| 採取番号 | 菌株番号 | 菌種名 | アクセッション 番号 | 相同性 (%) |
|------|-----------|---|---------------|------------|
| ④ | NRO-SO-1 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-2 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-3 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-4 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-5 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-6 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-7 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-8 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-9 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-10 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-11 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-12 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-13 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-14 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-15 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-16 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ④ | NRO-SO-17 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-1 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-2 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-3 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-4 | <i>Aspergillus penicillioides</i> isolate EMs6137 | JQ240645 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-5 | <i>Aspergillus penicillioides</i> isolate EMs6137 | JQ240645 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-6 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-7 | <i>Aspergillus penicillioides</i> isolate EMs6137 | JQ240645 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-8 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-9 | <i>Aspergillus penicillioides</i> isolate EMs6137 | JQ240645 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-10 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-11 | <i>Aspergillus penicillioides</i> isolate EMs6137 | JQ240645 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-12 | <i>Aspergillus penicillioides</i> isolate EMs6137 | JQ240645 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-13 | <i>Aspergillus penicillioides</i> isolate EMs6137 | JQ240645 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-14 | <i>Aspergillus penicillioides</i> isolate EMs6137 | JQ240645 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-15 | <i>Aspergillus penicillioides</i> isolate EMs6137 | JQ240645 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-16 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |
| ⑤ | NRO-IB-17 | <i>Aspergillus vitricola</i> isolate NRRL 5125 | EF652046 | 99 |

類似した化学組成であるシェンナ系とアンバー系を比較してみると、ローヤバートの名称に限らず、シェンナ系で抗カビ性が低かった(ローシェンナ, 評価3; ローアンバー, 評価2; バートシェンナ, 評価3; バートアンバー, 評価2)。シェンナ系とアンバー系の組成の違いとして、アンバー系にはマンガンが含まれることが挙げられる。このことから、供試した2菌株はマンガンに対して発育阻害がある可能性が高い。この点については、分離菌株を用いて濃度の異なるマンガン添加培地上での発育阻害についてさらに検証する必要がある。

ジンクホワイト(評価1)、チタニウムホワイト(評価1)、シルバーホワイト(評価2)の順で高い抗カビ性が認められたが、中でも特にジンクホワイトでは菌糸の発育がほとんどなかった。ジンクホワイトの主成分である酸化亜鉛は、乾性油の種類によって、乾燥時に脂肪酸と反応して金属石鹸を形成する。その金属石鹸がカビの好餌となりカビが発生するという報告^{11,14)}があるため、ジンクホワイトではカビが発育すると推測された。しかし、本研究の実験では上述の推測と逆の結果となった。



図4 *Aspergillus* 属の既知近縁種および分離株の ITS 領域塩基配列 (515~614塩基) に基づく近隣結合法による分子系統樹。1,000回のブートストラップ検定¹⁶⁾を行い60%以上の分枝にはその数値を記した。左下の0.01で示したスケールバーは1塩基置換あたりの枝長を表す。

表5 《船着き場》で推定された顔料

| No. | カビ* | 色調 | 検出元素 | 推定顔料 |
|-----|-----|-----------|-------------------|---|
| 1 | | 茶 | Ti Fe Zn Pb | ローアンバー, ローシェンナ, バーントシェンナ, バーントアンバー |
| 2 | | 深緑 | Cr Fe Zn Pb | クロムグリーン, クロムイエロー, プルシャンブルー, ビリジャン, テルベルト |
| 3 | | 緑 | Fe Cr Zn Pb | クロムグリーン, クロムイエロー, プルシャンブルー, ビリジャン, テルベルト |
| 4 | | 朱 | Ti Fe Zn Kr Pb | バーミリオン |
| 5 | ○ | 黒みかかった茶 | Ti Fe Co Zn Pb | マルスブラック, ローアンバー, ローシェンナ, バーントシェンナ, バーントアンバー |
| 6 | | 黄土 | Ti Fe Zn Pb | イエローオーカー |
| 7 | | 薄く黒みかかった緑 | Ti Cr Fe Zn Kr Pb | マルスブラック, クロムグリーン, クロムイエロー, プルシャンブルー, ビリジャン, テルベルト, チタニウムホワイト, ジンクホワイト, 鉛白 |
| 8 | ○ | 黒みかかった緑 | Ti Cr Zn Pb Fe | マルスブラック, クロムグリーン, クロムイエロー, プルシャンブルー, ビリジャン, テルベルト |
| 9 | ○ | 白 | Ti Zn Pb | チタニウムホワイト, ジンクホワイト, 鉛白 |
| 10 | ○ | 白 | Ti Zn Pb | チタニウムホワイト, ジンクホワイト, 鉛白 |
| 11 | ○ | 白みかかった緑 | Ti Fe Zn Pb | テルベルト, チタニウムホワイト, ジンクホワイト, 鉛白 |
| 12 | ○ | 白 | Ti Fe Zn Pb | チタニウムホワイト, ジンクホワイト, 鉛白 |
| 13 | | 黒みかかった緑 | Ti Cr Fe Zn Pb | マルスブラック, クロムグリーン, クロムイエロー, プルシャンブルー, ビリジャン, テルベルト |
| 14 | ○ | 緑 | Ti Fe Zn Pb | テルベルト |
| 15 | | 明るい緑 | Cr Fe Zn Pb | クロムグリーン, クロムイエロー, プルシャンブルー, ビリジャン |

*, ○はカビ被害が確認された部位を示す

クロムグリーン No.1 (評価3) はクロムイエロー (評価2) とプルシャンブルー (評価4) を混合した絵具であり, プルシャンブルーではカビの発育がみられ, クロムイエローではプルシャンブルーに比べてカビの発育があまりみられなかった。クロムが含まれているビリジャン (評価4) にカビがかなり発育していることから, 供試した2菌株は鉛とクロムが両方含まれる絵具の場合, 鉛の存在が抗カビ性に起因すると推論できる。

今回の試験では, ジンクホワイトで明らかに高い抗カビ性が認められたが, その他の絵具ではカビの発生量に顕著な差が認められない結果となった。本研究で使用した油絵具に使用されている乾性油は顔料ごとに異なるため, 全て同じ乾性油を使用したサンプルでのカビ抵抗性試験も今後の検討課題である。

表6 《朝陽》で推定された顔料

| No. | カビ* | 色調 | 検出元素 | 推定顔料 |
|-----|-----|---------|----------------|------------------------------------|
| 1 | ○ | 青みかかった紫 | Zn Pb Co | コバルトブルー, マダーレーキ, コバルトバイオレット |
| 2 | ○ | 青みかかった紫 | Zn Pb Co | コバルトブルー, マダーレーキ, コバルトバイオレット |
| 3 | | 緑 | Zn As Pb | エメラルドグリーン |
| 4 | | 水色 | Zn As Pb Co | コバルトブルー, ジンクホワイト, 鉛白 |
| 5 | | 朱 | Zn As Re Hg Pb | オーピメント, リアルガー, バーミリオン |
| 6 | | 紫 | Zn Pb Co | コバルトバイオレット |
| 7 | | 紫 | Zn Pb Co | コバルトバイオレット |
| 8 | ○ | 黄 | Zn As Pb | オーピメント, リアルガー |
| 9 | ○ | 黄緑 | Zn As Pb Co | オーピメント, リアルガー, オーレオリン, コバルトブルー |
| 10 | ○ | 薄橙 | Zn As Pb Co Fe | オーピメント, リアルガー, ジンクホワイト, 鉛白, オーレオリン |
| 11 | ○ | 濃橙 | Zn As Pb Co | オーピメント, リアルガー, ジンクホワイト, 鉛白, オーレオリン |

*, ○はカビ被害が確認された部位を示す

表7 各種の顔料における分離菌株の抗カビ性評価

| 油絵具名 | 化学組成 | 抗カビ性* | |
|--------------|---|----------|----|
| | | 発育面積比(%) | 評価 |
| マルスブラック | FeO | 78.3 | 4 |
| クロムイエロー | PbCrO ₄ | 23.8 | 2 |
| クロムグリーン No.1 | PbCrO ₄ + KFe[Fe(CN) ₆] ₃ | 30.8 | 3 |
| ローアンバー | Fe(OH) ₃ + Mn | 27.6 | 2 |
| ローシェンナ | Fe(OH) ₃ | 33.9 | 3 |
| バーントアンバー | Fe ₂ O ₃ · H ₂ O + Mn | 29.9 | 2 |
| バーントシェンナ | Fe ₂ O ₃ · H ₂ O | 52.0 | 3 |
| ビリジャン | Cr ₂ O(OH) ₄ | 77.8 | 4 |
| テルベルト | Mg(Fe)O · CaO · 2SiO ₂ + (Mg · Fe)O(Al · Fe) ₂ O ₃ · 3SiO ₂ | 49.1 | 3 |
| プルシャンブルー | KFe[Fe(CN) ₆] ₃ | 81.8 | 4 |
| ジンクホワイト | ZnO | 7.3 | 1 |
| チタニウムホワイト | TiO ₂ | 7.5 | 1 |
| シルバーホワイト | 2PbCO ₃ · Pb(OH) ₂ | 12.9 | 2 |

*, 23℃, 7日間培養後の結果を示す

4. 終わりに

本研究では修復前の2点の油彩画を対象とし、表面に認められるカビについて分離培養を行い、分子生物学的手法を用いて近縁菌種の推定を行った。さらに油彩画表面では顔料の異なる部位でカビの発生に大きな違いがあることが観察されたため、画面上で実際に使用された絵具の種類を推定し、その絵具に化学組成が類似する市販の絵具を用いた抗カビ性試験によってカビの発育の差異を調査した。結果として、油彩画からは、好乾性の *Aspergillus penicillioides* と *Aspergillus vitricola* に近縁な34株のカビが分離された。この2種の分離株を用いて行った各種の絵具による抗カビ性試験より、化学組成が酸化亜鉛、酸化チタン、鉛、マンガンに由来する顔料では、供試菌が耐性を有していないことが結果から考察できた。

実際の油彩画表面では顔料の異なる部分でカビ発生に顕著な差があるように観察されたが、それが顔料に起因するか否かの結論を得るには、関連する研究成果^{14,15)}との比較を行うとともに、実験では全て同じ乾性油を使用したサンプルでのカビ抵抗性試験や異なる培養条件あるいは菌の種類を増やしたさらなる解析が必要であると考えられる。

謝辞

本稿の発表についてのご理解とご承諾を賜りました、2点の油彩画の所蔵者である臼井恵二様に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.: Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: PCR Protocols: a guide to methods and applications. (Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J., eds). Academic Press, New York, USA: 315-322 (1990)
- 2) Altschul, S.F., Madden, T.F., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D.J.: Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25, 3389-3402 (1997)
- 3) Kumar S., Stecher G., and Tamura K.: MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33, 1870-1874 (2016)
- 4) Saitou N., Nei M.: The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4, 406-425 (1987)
- 5) 高島 浩介: かび検査マニュアルカラー図譜、テクノシステム (2002)
- 6) 三浦耕太、塚田祐基: ImageJ ではじめる生物画像解析、株式会社学研メディカル秀潤社(2016)
- 7) Ohtsuki, T: Studies on the glass mould V. On two Species of *Aspergillus* Isolated from Glass, *The botanical magazine*, Tokyo, 75, 436-442 (1962)
- 8) 宇田川俊一、椿啓介、堀江義一、三浦宏一郎、箕浦久兵衛、山崎幹夫、横山竜夫、渡辺昌平: 菌種図鑑 上・下、講談社 (1987)
- 9) Tamura M., Kawasaki, M. and Sugiyama, J., Identity of the xerophilic species *Aspergillus penicillioides*: Integrated analysis of the genotypic and phenotypic characters, *The Journal of General and Applied Microbiology*, 45, 29-37 (1999)
- 10) 新井英夫: 紙質類文化財の保存に関する微生物学的研究 (第1報) 紙の褐色斑 (foxing) から糸状菌の分離、*保存科学*、23、33-40 (1984)
- 11) ホルベイン工業(株): 絵具の科学、中央公論美術出版、(1994)
- 12) ホルベイン工業(株): 絵具材料ハンドブック、中央公論美術出版、(1997)
- 13) ホルベイン工業(株): 絵具の辞典、中央公論美術出版、(2010)
- 14) 村上浩二、岡野雅子、斎藤裕子、今村友紀、高橋和宏、岩路仁: カビに侵食された油彩画の断面微細構造、*日本防菌防黴学会誌*、42、日本防菌防黴学会、(2014)
- 15) 福田安住、上野淑美、橋本一浩、川上裕司: 油絵具とアクリル絵具の色材ごとのカビ繁殖比較、*文化財保存修復学会 第32回大会研究発表要旨集*、文化財保存修復学会、(2010)
- 16) Felsenstein J.: Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 783-791 (1985)

キーワード：油彩画 (oil painting)；分離培養 (isolation and cultivation)；アスペルギルス ペニシロイデス (*Aspergillus penicillioides*)；アスペルギルス ビトリコラ (*Aspergillus vitricola*)；抗カビ性 (antifungal activity)

Isolation and Characterization of Xerophilic Molds on Oil Paintings

Shizuno SOMA*, Yoshinori SATO and Sachio YONEMURA*

In the present study, xerophilic molds colonizing on the surface of two oil paintings were isolated and identified by morphologic and molecular biologic techniques. Because it was observed that outbreak of molds on the oil paintings made a difference depending on different colors, chemical components of the pigments were determined. Then, an examination of antifungal activities of the pigments detected from the oil paintings was performed.

As a result, *Aspergillus penicillioides* and *Aspergillus vitricola* were isolated and identified as the major species on the oil paintings. The pigments made of zinc oxide, titanium oxide, lead and manganese suppressed the growth of these two representative species of the molds.

It was observed that there is a remarkable difference in mold outbreak in the different colors of the oil paintings, but further analysis is necessary to determine whether it is caused by a pigment.

*Tohoku University of Art & Design